

## Dipresentasikan pada Simposium

**Makassar Allergy Immunology Network (MARINE) Symposium & Workshop 2018  
27-28 April 2018 Sandeq Ball Room Hotel Clarion Makassar.**

### **THE ROLE OF INTESTINAL MICROBIOTA ON COLORECTAL CANCER**

<sup>1,2</sup>Rahmawati Minhajat

<sup>1</sup>Department of Histology, <sup>2</sup>Division of Hematology and Medical Oncology  
Department of Internal Medicine Medical Faculty Hasanuddin University, Makassar

#### **ABSTRAK**

Colorectal cancer (CRC) is the development of cancer from the part of large intestine. It is due to the abnormal growth of cells that have the ability to invade or spread to other parts of the body. Cancer incidence in the large intestine is also known to be approximately 12-fold higher than that of the small intestine which has been attributed to several magnitude greater bacterial density in the large intestine ( $\sim 10^{12}$  cells/ml) compared with that in the small intestine ( $\sim 10^2$  cells/ml).

Although genes contribute to colorectal cancer (CRC), the gut microbiota are an important player. The general mechanisms for bacteria associated (or induced) tumorigenesis are through enhancing toxic bacterial products, decreasing beneficial bacterial metabolites, disrupted tissue barriers. Abnormal immunity, chronic inflammation, and hyperproliferation also contribute to the progression of cancer. Microbial pathogens and intestinal inflammation can compromise intestinal barrier function and result in increased gut permeability, translocation of various microbial substances, and immune activation. Dysbiosis further enhances barrier failure and inflammation. The host factor, such as genetic defect, could enhance the dysbiosis along with the environment trigger and change of dietary. The classical pathways activated by the dysbiosis and bacterial infiltration are via the Toll-like receptors (TLR).

Based on current understandings of the roles of microbiota in gastrointestinal cancer, targeting the gut microbiota is a promising avenue in order to prevent cancer or at least stop the increase of cancerous cells.

## I. PENDAHULUAN

Kanker kolorektal (KKR) adalah penyakit keganasan usus besar yang disebabkan oleh adanya pertumbuhan sel yang tidak terkontrol, kondisi ini disebabkan oleh akumulasi dari instabilitas genetik dan epigenetik yang dipengaruhi oleh berbagai faktor termasuk faktor genetik, epigenetik, inflamasi kronik, diet dan gaya hidup sehingga terjadi perubahan sel epitel kolon normal menjadi sel karsinoma.<sup>1</sup>

Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO) 2012, KKR menempati urutan ketiga kanker terbanyak pada laki-laki (746.000 kasus, 10.0% dari total) dan urutan kedua pada wanita (614.000 kasus, 9.2% dari total) di seluruh dunia. Hampir 55% terjadi di negara maju, namun sekitar 52% angka kematian terjadi di negara yang kurang berkembang. Ada variasi geografis yang luas insidens di seluruh dunia dan pola geografis yang sangat mirip pada pria dan wanita. Diduga akan terjadi permasalahan global dimanadiperkirakan KKR meningkat sebesar 60% atau menjadi lebih dari 2,2 juta kasus baru dan 1,1 juta kematian pada tahun 2030.<sup>2</sup>

Meskipun gen berkontribusi pada kanker kolorektal, mikrobiota usus juga berperan penting. Banyak bukti dilaporkan bahwa infeksi kronis dan inflamasi selanjutnya akan berkontribusi pada inisiasi tumor dan perkembangan tumor. Berbagai spesies bakteri dan mekanisme virulensi yang mempromosikan terjadinya tumor telah

banyak diteliti. Penelitian mikrobiota usus yang banyak dilakukan saat ini yaitu untuk memahami komposisi dan kemampuan fungsional mikrobiota usus serta perannya pada terjadinya kanker kolorektal.<sup>3</sup>

Flora bakteri komensal di saluran gastrointestinal (GI) berbeda berdasarkan lokalisasi anatomis, baik secara longitudinal maupun *cross-sectional*. Kepadatan bakteri komensal di usus halus sekitar  $\sim 10^2$  sel per ml sedangkan di usus besar sekitar  $\sim 10^{12}$  sel per ml, hal ini dikaitkan kemungkinan adanya hubungan dengan tingginya insidens kanker kolorektal dibandingkan dengan insidens kanker usus halus, dimana diketahui insidens kanker kolorektal 12 kali lebih banyak dari pada insidens kanker usus halus. Komposisi mikrobiota komensal yang seimbang di dalam usus dapat membantu dalam perkembangan sistem kekebalan tubuh host dan mencegah kolonisasi patogen. Sebaliknya, ketidakseimbangan mikrobiota usus, terutama disregulasi bakteri usus akan berkontribusi pada terjadinya KKR melalui beberapa mekanism, antara lain terjadinya inflamasi, gangguan modulasi sistem imun dan terbentuknya stres oksidatif.<sup>3</sup>

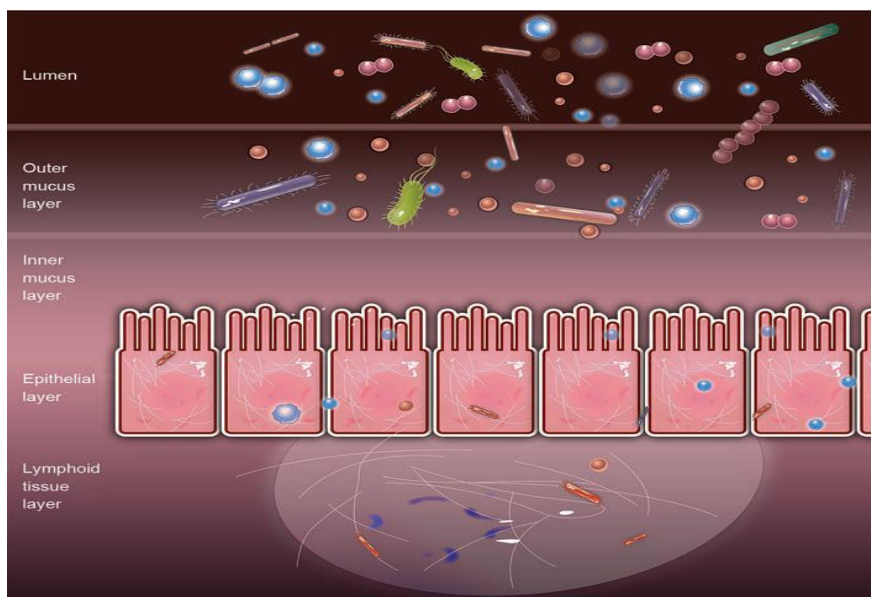
Pada pembahasan selanjutnya kami fokuskan pada peranan mikrobiota usus pada kanker kolorektal.

## **II. MIKROBIOTA USUS**

Mikrobiota usus merupakan ekosistem kompleks yang berkembang seiring dengan perkembangan host dan tergantung pada lingkungan fisiologis host. Manusia telah berevolusi bersama dengan mikrobiota mereka selama ribuan tahun. Populasi bakteri usus stabil selama tahun-tahun pertama kehidupan dan masih tetap stabil sepanjang hidup pada mayoritas populasi. Jumlah spesies mikroba dalam usus

manusia diperkirakan 1000-1150, dengan masing-masing individu menyimpan setidaknya 160 (Qin, Li et al 2010). Hal tersebut menunjukkan bahwa jumlah gen mikrobiota usus melebihi jumlah gen dalam genom manusia sebanyak 150 kali lipat.

Meskipun mikrobiota usus bukan hanya bakteri, tetapi secara tipikal mikrobiota pada usus manusia didominasi oleh bakteri sehingga banyak penelitian terkait mikrobiota usus yang dikaitkan dengan inflamasi dan KKR adalah penelitian mikrobiota bakteri usus. Secara anatomis, bakteri komensal pada usus dibagi atas empat populasi yaitu; (1) bakteri komensal pada lumen usus, (2) bakteri pada mukus, (3) bakteri pada epitelium dan (4) bakteri komensal pada jaringan limfoid usus (Gambar 1)



Gambar 1. Gut commensal bacteria are anatomically defined as four populations: luminal commensal bacteria, mucus-resident bacteria, epithelium-resident bacteria, and lymphoid tissue-resident commensal bacteria. Many species of bacteria are localized in the lumen and outer mucus layer, while the inner mucus layer is almost sterile. Few species of bacteria can move from the lumen and outer mucus to the intestinal epithelial cells (IECs) and lymphoid tissue. Zhao L. et al, J.ENG.2017

Mayoritas penelitian tentang peranan mikrobiota pada KKR berfokus pada mikrobiota komensal pada luminal usus. Dari penelitian *Arumugam et al*, yang menganalisa 39 orang sehat dari 6 negara, dilaporkan bahwa lebih dari 90% bakteri komensal luminal usus bagian bawah (usus besar) terdiri dari dari empat *phyla* utama, yaitu; *Firmicutes*,

*Bacteroidetes, Actinobacteria, and Proteobacteria*, dan *phyla* terbanyak adalah *Firmicutes* (39%), *Bacteroidetes* (25%), *Actinobacteria* (9%). Karena adanya variabilitas yang besar antar-individu terkait komposisi mikrobiota luminal usus, maka fungsi bakteri dominan, terutama ketika terintegrasi dengan seluruh komunitas mikroba, tetap belum tidak diketahui.

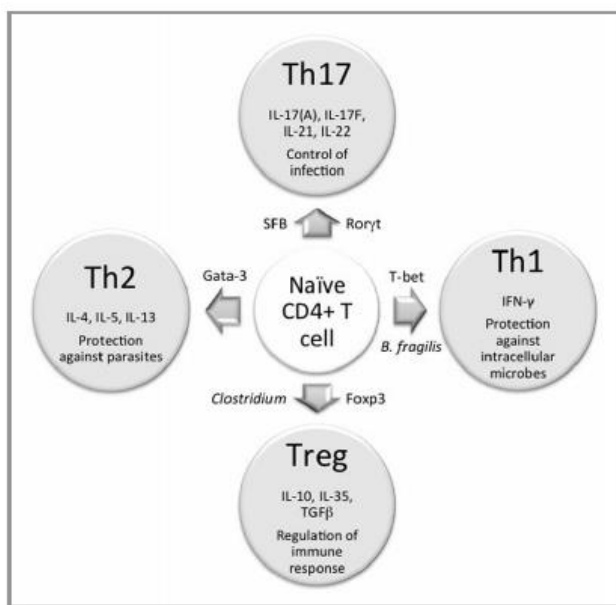
### **III. HOMEOSTASIS ANTARA SISTEM IMUN DAN MIKROBIOTA USUS**

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa sinyal yang berasal dari mikrobiota usus sangat penting untuk perkembangan sistem imunitas tubuh, dimana mikrobiota berperan penting baik pada pembentukan imunitas non-spesifik (innate) maupun imunitas spesifik (adaptif). Percobaan dengan memanipulasi mikrobiota, baik dengan pengobatan antibiotik atau rekonstitusi mikrobiota, juga telah membuktikan peranan penting mikrobiota terhadap homeostasis imun. Satu catatan penting adalah mikrobiota usus tidak hanya berperan dalam regulasi system imunitas local di usus tetapi juga berperan penting pada respon imun sistemik.

Keterkaitan antara mikrobiota dengan imunitas non-spesifik dijelaskan bahwa *Antigen presenting cell* (APC) telah berevolusi bersama mikrobiota dimana karakteristik APC usus adalah mempunyai kemampuan melindungi tubuh dari infeksi disamping tetap mempertahankan toleransi imun terhadap mikrobiota usus. Sel dendritik (DC) Peyer's patches menghasilkan IL10 lebih tinggi dari pada DC yang ada pada limpa, begitupun dengan makrofag usus yang terletak di dekat mikrobiota usus,

Pada sel-sel tersebut berkembang fenotipe unik, yang disebut "*inflammation anergy*" merujuk pada profil noninflamasi makrofag usus ketika mereka terpapar rangsangan mikroba pada kondisi homeostatic. Sebagai contoh, makrofag usus tidak menghasilkan sitokin pro-inflamasi sebagai respons terhadap rangsangan mikroba seperti ligan Toll-like receptor (TLR).

Keterkaitan antara mikrobiota dengan imunitas spesifik dijelaskan bahwa Mikrobiota usus memainkan peran penting dalam perkembangan sel T CD4+, baik di dalam maupun di luar usus. Pada gambar 2, terlihat bagaimana mikrobiota komensal menginduksi diferensiasi naïve CD4 limfosit T menjadi empat subtype yaitu Th1, Th2, Treg dan Th17



Gambar 2. Commensal bacteria induce CD4+T cell differentiation. Naïve CD4+T cells can differentiate into four major cell types: Th1, Th2, Tregs and Th17. The differentiation of each lineage requires the induction of a transcription factor that is unique to each lineage. Once differentiated, each lineage secretes a special (set of) cytokine, as shown in the figure. Th1 cells play an important role in eliminating intracellular pathogens while Th2 function to control parasitic infection. The primary role of Th17 is to control infection and Tregs is to regulate immune response. The type of bacteria species that has been shown to induce a particular T cell differentiation pathway is indicated in the figure. (*Gut Microbes* 3:1, 4–14; 2012)

Mikrobiota komensal usus, sebagai ekosistem mutualistik, memainkan peran ganda dalam menjaga kesehatan dan juga dapat menginduksi penyakit. Homeostasis

antara sistem imun host dan mikrobiota usus sangat penting untuk menjaga kesehatan usus, tetapi keseimbangan dinamis ini sangat rentan dalam kondisi tertentu, dan dapat menyebabkan terjadinya inflamasi dan dalam jangka waktu lebih lama dapat menyebabkan keganasan pada usus. Banyak mekanisme yang mendasari terjadinya gangguan hemostasis usus, termasuk infeksi bakteri patogen, disbiosis dan gangguan sistem kekebalan tubuh.

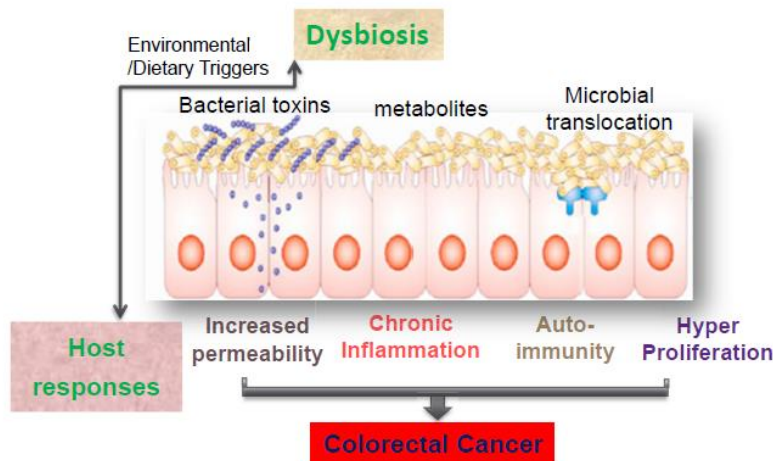
Bila terjadi tekanan dari luar; misalnya infeksi atau antibiotik maka dapat menyebabkan gangguan keseimbangan komunitas mikrobiota usus. Sedangkan tekanan yang berasal dari dalam; misalnya perubahan genetik yang terkait dengan gen imun non-spesifik maupun gen imun spesifik maka dapat terjadi gangguan pada regulasi mikrobiota usus. Kedua kondisi tersebut pada akhirnya dapat menyebabkan dysbiosis dan kondisi patologis, termasuk terjadinya inflamasi dan kanker kolorektal.

Dysbiosis mikrobiota usus terjadi pada banyak penyakit kronik yang diperantarai oleh imun, seperti penyakit radang usus (IBD) dan colitis yang dikaitkan dengan terjadinya KKR. Sebaliknya, respon imun yang tidak terkendali, dapat pula diinduksi oleh kondisi disbiosis, hal inilah menjadi dasar terjadinya IBD dan KKR.

#### **IV. PERANAN MIKROBIOTA USUS PADA TERJADINYA INFLAMSI DAN KANKER KOLOREKTAL**

Mekanisme umum terjadinya gastrointestinal tumorigenesis yang dihubungkan (atau diinduksi) oleh bakteri yaitu melalui peningkatan produksi bakteri toksik, penurunan metabolit bakteri yang bermanfaat dan kerusakan barier jaringan. Imunitas abnormal, inflamasi kronik dan hiperproliferatif juga berkontribusi pada progresi kanker. Mikroba patogen dan inflamasi intestinal dapat merusak fungsi barier intestinal

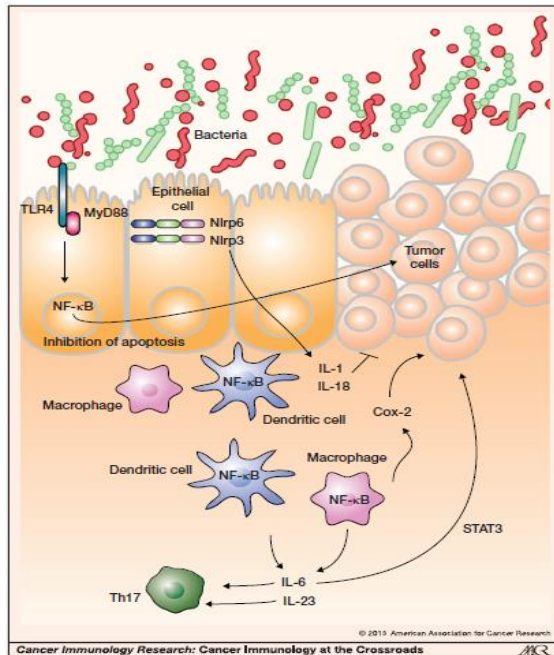
sehingga terjadi peningkatan permeabilitas usus, translokasi berbagai substansi mikroba dan aktivasi imun. Kondisi disbiosis selanjutnya meningkatkan kegagalan barier dan inflamasi. Faktor host, seperti kerusakan gen, faktor lingkungan dan perubahan diet dapat meningkatkan disbiosis. (Gambar 3)



Gambar 3. Model mekanisme umum kanker kolon yang dihubungkan (diinduksi) oleh bakteri. *J.Sun. Genes & Diseases (2016) 3, 130e143*

Sel-sel epitel usus dan sel-sel myeloid merasakan microbe associated molecular patterns (MAMP) melalui TLR dan NLR PRRs. Interaksi MAMPs dengan TLRs yang terikat pada permukaan sel akan menyebabkan aktivasi faktor transkripsi NF-kB melalui molekul adaptor MyD88. Sinyal NF-kB pada sel epitel mengubah ekspresi gen antiapoptotic termasuk Bcl2L1 dan Bcl2, hal ini berkontribusi pada transformasi sel epitel. Aktivasi NF-kB pada sel-sel myeloid menyebabkan peningkatan kadar IL-6 dan IL-23, yang kemudian akan meningkatkan sel Th17 yang memainkan peran penting pada terjadinya kanker kolorektal terkait kolitis. IL-6 dapat berkontribusi langsung terhadap perkembangan kanker kolorektal melalui aktivasi STAT3. PTGS2 (COX-2) adalah mediator inflamasi kunci pada kanker kolorektal. Nlrp3 dan Nlrp6,

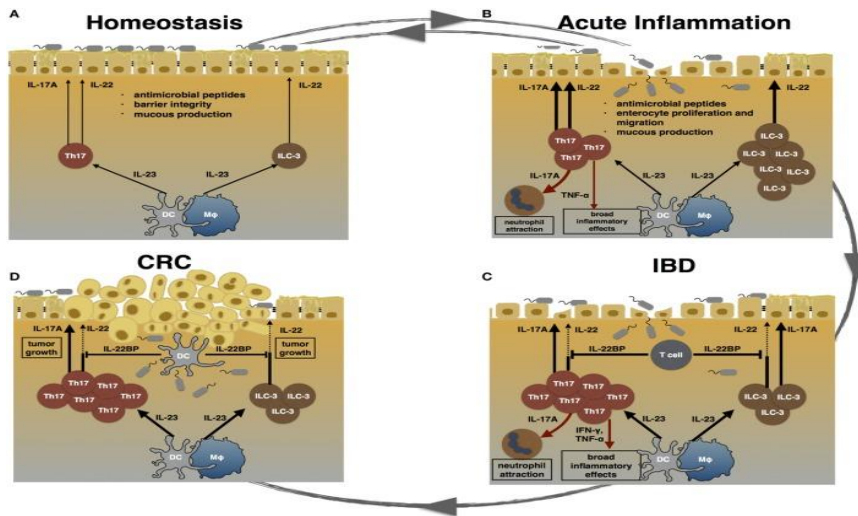
anggota NLR member sinyal mikroba dan non-mikroba dalam kompartemen sitosolik dan merupakan komponen dari inflammasomes, yang berfungsi dalam perlindungan terhadap terjadinya kanker kolorektal.



Gambar 4. Microbial sensors and responders in colorectal cancer. *Cancer Immunol Res*; 1(3). 2013

Telah dijelaskan bahwa mikroba komensal intestinal dan sistem imun menjaga hemostasis intestinal. Akan tetapi, apabila hemostasis ini terganggu maka kondisi inflamasi kronik akan muncul, yang paling sering adalah *inflammatory bowel disease* (IBD) yang terdiri dari *ulcerative colitis* (UC) dan Crohn's disease (CD). Manifestasi umum IBD adalah UC yang terbatas pada colon, dengan gambaran inflamasi yang terbatas pada mukosa dan submukosa. Crohn's disease dapat berupa inflamasi ringan ataupun dengan kondisi ulkus yang dalam yang mengenai seluruh traktus gastrointestinal.

Secara umum ada empat komponen yang terkait dengan patomekanisme IBD, yaitu predisposisi genetik, faktor lingkungan, mikrobiom intestinal dan disregulasi sistem imun. Sel Th17 dihubungkan dengan empat komponen tersebut. Selama kondisi hemostasis sel Th17 dan ILC2 (*cell innate lymphoid group 3*) diinduksi oleh beberapa mikrobiota komensal. IL-17 dan IL-22 mempromosikan integritas barier epitel, produksi mucus, dan melepaskan peptide anti-mikroba. Inflamasi akut dapat terjadi apabila ada mikroba patogenik. Invasi mikroba patogen akan menginduksi ekspresi Th17 dan ILC3, sitokin terkait Th17 akan menarik netrofil dan memicu respon inflamasi dengan tujuan untuk membersihkan mikroba patogen tersebut. Selanjutnya, IL-17A dan IL-22 mempromosikan proliferasi dan migrasi enterosit, kemudian mempromosikan perbaikan mukosa. Setelah membersihkan patogen, sistem imun intestinal kembali ke kondisi hemostasis. Suatu keadaan dimana terjadi kegagalan dalam menghentikan respon imun intestinal maka dapat menyebabkan terjadinya inflamasi kronik. Pada IBD, sel Th17 yang sangat patogen mengalami ekspansi dan mensekresi sitokin proinflamasi seperti IL-17A, TNF- $\alpha$ , dan IFN- $\gamma$ . Khususnya TNF- $\alpha$  dan IFN- $\gamma$  akan menyebabkan respon inflamasi yang luas. Efek peningkatan IL-22 akan terjadi kontra regulasi melalui peningkatan kadar IL-22BP sel T (T cell-derived IL-22 binding protein) pada pasien IBD. Peningkatan IL-17A dan IL-22 yang berlangsung lama dapat meningkatkan terjadinya karsinogenesis. Dalam hal ini, IL-22 dapat dikontrol oleh IL-22BP yang berasal dari DC. Namun, apakah mekanisme ini gagal pada kanker kolorektal, hal tersebut, sampai saat ini belum diketahui (Gambar 4).



Gambar 5. TH17 cells during homeostasis, inflammation, and carcinogenesis *Kempski J, et al. Front Immunol, 2017*

## V. RINGKASAN

Kanker kolorektal adalah penyakit keganasan usus besar yang disebabkan oleh adanya pertumbuhan sel yang tidak terkontrol. Meskipun gen berkontribusi pada kanker kolorektal, mikrobiota usus juga dilaporkan turut berkontribusi. Telah dijelaskan bahwa mikroba komensal intestinal dan sistem imun menjaga hemostasis intestinal. Akan tetapi, apabila hemostasis ini terganggu maka kondisi inflamasi kronik akan muncul, dan yang paling sering dihubungkan dengan kanker kolorektal adalah IBD. Secara umum ada empat komponen yang terkait dengan patomekanisme IBD, yaitu predisposisi genetik, faktor lingkungan, mikrobiom intestinal dan disregulasi sistem imun. Sel Th17 dihubungkan dengan empat komponen tersebut., namun demikian masih banyak hal yang perlu diteliti mengenai mekanisme kanker kolorektal terkait mikrobiota usus.

## VI. KEPUSTAKAAN

1. Weitz J, Koch M, Debus J, et al. Colorectal cancer. *Lancet*. 2005;365(9454):153-65.
2. WHO. Colorectal cancer: Estimated Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. Globocan 2012. Available at [http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_cancer.aspx?cancer=colorectal](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx?cancer=colorectal)
3. Zhao L, Zhang X, Zuo T, Yu J. The Composition of Colonic Commensal Bacteria According to Anatomical Localization in Colorectal Cancer. *Engineering*, 2017, 3(1): 90 -7.
4. Hooper LV, Littman DR, Andrew J. Macpherson AJ. Interactions between the microbiota and the immune system. *Science*. 2012;8; 336(6086): 1268–73.
5. Price JL, Ali GA, Huttenhowe C. The healthy human microbiome. *Genome Medicine*. 2016;8:51.
- 6.
7. Arumugam M, Raes J, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011;473(7346):174–80
8. Sun J, Kato I. Gut microbiota, inflammation and colorectal cancer. *Genes Dis*. 2016 Jun;3(2):130-43.
9. Kang M, Martin A. Microbiome and colorectal cancer: Unraveling host-microbiota interactions in colitis-associated colorectal cancer development. *Semin Immunol*. 2017; Aug;32:3-13.
10. Roy S, Trinchieri G. Microbiota: a key orchestrator of cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2017;17(5):271-85.
11. Kempski J, Brockmann L, Gagliani N, Huber S. TH17 Cell and Epithelial Cell Crosstalk during Inflammatory Bowel Disease and Carcinogenesis. *Front Immunol*. 2017 Oct 25;8:1373.
12. Chen GY. The Role of the Gut Microbiome in Colorectal Cancer. *Clin Colon Rectal Surg*. 2018;31(3):192-8.
13. Kostic AD, Chun E, Wendy S. Garrett WS, et al. Microbes and Inflammation in Colorectal Cancer. *Cancer Immunol Res*. 2013; 1(3); 150–7.

14. Narayanan V, Peppelenbosch MP, Konstantinov SR. Human fecal microbiome-based biomarkers for colorectal cancer. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2014;7(11):1108-11.
15. Guthrie L, Gupta S, Daily J, Kelly L. Human microbiome signatures of differential colorectal cancer drug metabolism. *NPJ Biofilms Microbiomes*. 2017 Nov 1;3:27.
16. Wu HJ, Wu E. The role of gut microbiota in immune homeostasis and autoimmunity *Gut Microbes*. 2012;3(1):4-14.
17. Ilseung Cho I, Blaser MJ. The Human Microbiome: at the interface of health and disease. *Nat Rev Genet*. 2012;13(4): 260–70.
18. Belkaid Y, Hand T. Role of the Microbiota in Immunity and inflammation. *Cell*. 2014. 27; 157(1): 121–41.
19. Terzic J, Grivennikov S, Karin E, Karin M. Inflammation and colorectal cancer. *Gastroenterology*. 2010;138:2101–14